

鼬科动物线粒体 DNA 控制区结构分析

张洪海^{1,2,*}, 徐纯柱^{2,3}, 马建章²

(1. 曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165; 2. 东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040;

3. 东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 利用 PCR 技术获得紫貂 (*Martes zibellina*) 和黄喉貂 (*Martes flavigula*) 线粒体 DNA 控制区全序列, 并结合从 GenBank 中下载的 9 种鼬科动物相应序列, 用 ClustalX 排序后对控制区结构进行分析, 识别出延长终止序列区、中央区 and 保守序列区 3 个区域, 指出了 1 个终止相关序列 ETAS1 及 8 个保守序列 (CSB-F、E、D、C、B、1、2 和 3), 并给出了序列通式, 在 CSB1 和 CSB2 之间发现不同形式的短重复序列。此外, 以狼为外类群, 应用邻接法构建鼬科线粒体控制区全序列的系统进化树, 结果表明: 臭鼬亚科最先从鼬科中分化出来, 随后剩余类群分为两大支系, 即貂属种类与貂熊聚为一支, 并与獾亚科的狗獾形成姐妹群; 另一支为水獭亚科的物种与鼬属的林鼬形成姐妹群, 再与虎鼬聚在一起, 狗獾与貂属的紫貂亲缘关系最近, 水獭亚科与鼬属亲缘关系最近。

关键词: 鼬科; 线粒体 DNA; 控制区; 系统发育

文章编号: 1000-0933 (2009) 07-3585-08 中图分类号: Q145 文献标识码: A

Structure of the mtDNA control region and phylogeny of the Mustelidae species

ZHANG Hong-Hai^{1,2,*}, XU Chun-Zhu^{2,3}, MA Jian-Zhang²

1 College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China

2 College of Wildlife Resource, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

3 College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(7): 3585 ~ 3592.

Abstract: Complete sequences of the mitochondrial DNA control region from Sable and Yellow-throated marten were amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR), and were aligned by ClustalX with nine other species of Mustelidae from GenBank. According to the alignment, three domains, the extended termination associated sequence domain (ETAS), the central domain (CD) and the conserved sequence block domain (CSB), were identified in the mtDNA control region of Mustelidae. A extended termination associated sequence (ETAS1) and eight conserved sequence (CSB-F, E, D, C, B, 1, 2, 3) were identified, and mode of sequence was provided. Different kinds of short repetitive sequences were found between CSB1 and CSB2. Moreover, the phylogenetic evolution relationship of Mustelidae was analyzed using the neighbor-joining (NJ) method with the Wolf as the outgroup. The results showed that Mephitinae was divided from Mustelidae firstly, and then the others were divided into two branches. The species of *Martes* and Wolverine were contained in one branch which was formed a sister group with Eurasian badger of Melinae; The species of Lutrinae and Polecat of *Mustela* formed a sister group, and Marbled polecat was sister to the clade of Lutrinae species and Polecat. They formed another branch. Eurasian badger has the closest relationship with the Sable of *Martes*, and Lutrinae has the closest relationship with *Mustela*.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30370218); 山东省自然科学基金资助项目 (No. 2002B13); 国家教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目 (NCET-070507); 山东省教育厅科技计划重点资助项目 (J07YG06); 山东省科技攻关计划资助项目 (2007GG2009011)

收稿日期: 2009-02-18; 修订日期: 2009-03-25

致谢: 张志明先生对紫貂样品采集给予帮助, 谨致谢忱。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhanghonghai67@126.com

Key Words: Mustelidae; mitochondrial DNA; control region; phylogeny

线粒体 DNA 控制区 (control region, CR) 是线粒体基因组中主要的非编码区, 该区位于 tRNA^{Pro} 和 tRNA^{Phe} 基因之间。进化过程中出现的基因突变导致不同物种间的控制区结构存在差异^[1]。迄今, 不少国内外学者描述了各类群的脊椎动物控制区的全部结构, 并识别出了功能十分重要的保守区序列, 报道了有关物种系统发生和种群遗传学等方面很有价值的信息^[2-7]。但由于动物物种在进化过程中的分化时间和分子进化速率不同, 控制区的结构特征也不一样^[2,7,8]。对于鼬科动物, 目前很少有人对其控制区的结构特征进行详细研究^[9], 多数学者都利用控制区序列重点对鼬科的很多物种进行种群结构和进化等方面的研究^[9-11]。

鼬科 (Mustelinae) 属食肉目 (Carnivora) 动物, 包括鼬亚科 (Mustelinae) (鼬类和貂类), 水獭亚科 (Lutrinae) (水獭类), 獾亚科 (Melinae) (獾类), 美洲獾亚科 (Taxidiinae) (美洲獾类) 和臭鼬亚科 (Mephitinae) (臭鼬类), 现存种类约 67 种^[9]。Wyss 和 Flynn^[12] 基于鼬科动物 64 个形态学性状构建了一个系统进化树, 认为鼬科是一个单系群, 臭鼬类被列为一个亚科与水獭亚科关系最近, 而鼬亚科、獾亚科和臭鼬亚科 + 水獭亚科同时向 3 个支系分化; 之后很多学者又对核基因 (RAG1 与 IRBP) 和线粒体基因部分序列 (蛋白编码基因、12S r RNA、IRBP、TTR 等) 进行分析, 他们认为臭鼬类应列为一个科即臭鼬科, 如此鼬科便是一个单系群, 鼬亚科与水獭亚科关系最近, 并且分化时间较獾亚科晚^[9,13], 而对于獾亚科的分属地位同样存在很大争议: 獾亚科与鼬亚科亲缘关系较近^[13] 还是和臭鼬亚科为近缘种类^[14] 尚有待进一步研究。基于以上关于鼬科分类系统意见的分歧, 本研究测定了紫貂 (*Martes zibellina*) 和黄喉貂 (*M. flavigula*) 的 mt DNA 控制区全序列, 并结合从 GenBank 中下载的 9 种鼬科物种的相应序列, 以期对鼬科动物 mt DNA 控制区结构进行分析, 从分子水平上探讨鼬科动物的系统发育关系, 进一步完善鼬科动物分类系统。

1 材料与方法

1.1 实验材料

紫貂血液样本来自大连金州名威貂业有限公司养殖中心的紫貂, 系野生所获; 黄喉貂肝脏样本采自黑龙江伊春。同时从 GenBank 下载了 9 种鼬科动物的控制区相应序列, 对这 11 个物种 (11 个个体) 进行结构分析, 实验材料来源见表 1。

表 1 鼬科动物材料及数据来源

Table 1 The origins of tissue samples of Mustelidae species and DNA data

亚科 Subfamily	属 Genus	种 Species	GenBank 登录号 GenBank number
Mustelinae	<i>Martes</i>	紫貂 <i>Martes zibellina</i>	FJ705136 *
		黄喉貂 <i>Martes flavigula</i>	FJ719367 *
	<i>Mustela</i>	林鼬 <i>Mustela putorius</i>	AY962045
	<i>Vormela</i>	虎鼬 <i>Vormela peregusna</i>	EF581366
	<i>Gulo</i>	貂熊 <i>Gulo gulo</i>	NC_009685
Mephitinae	<i>Conepatus</i>	智利獾臭鼬 <i>Conepatus chinga</i>	AY159818
		白背獾臭鼬 <i>Conepatus leuconotus</i>	AY159817
	<i>Spilogale</i>	东部斑臭鼬 <i>Spilogale putorius</i>	NC_010497
Lutrinae	<i>Enhydra</i>	海獭 <i>Enhydra lutris</i>	NC_009692
	<i>Lutra</i>	水獭 <i>Lutra lutra</i>	NC_011358
Melinae	<i>Meles</i>	獾 <i>Meles meles</i>	NC_011125
Caninae	<i>Canis</i>	狼 <i>Canis lupus</i>	NC_010340

* 为本实验材料 The sequences were sequenced in this study

1.2 基因组提取

基因组 DNA 的提取按 Sambrook and Russel^[15] 方法, 采用 SDS/蛋白酶 K 裂解, 酚/氯仿提取基因组 DNA, 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 引物设计和 PCR 扩增

根据已经测定的紫貂线粒体全基因组序列(GenBank. No. FJ429093),设计一对控制区特异性引物,扩增线粒体控制区,引物序列 DL-F:5'-GCCCCCAAAGCTGATATTCTAAC-3'; DL-R:5'-GTGTGGTTGAGCAAG-GCGT-3'。PCR 扩增反应体积为 50 μ l,含模板 DNA 1.0 μ l、10 $\times$ Pfu Buffer 5.0 μ l、dNTP Mixture 4.0 μ l、Pfu DNA Polymerase(北京三博志远生物技术有限公司)(5 U/ μ l)1.0 μ l、正反向引物(10 pmol/ μ l)各 2.0 μ l,加 dd H₂O 补足 50 μ l。PCR 反应的循环参数为:95℃ 预变性 5min,95℃ 变性 40s,57℃ 退火 30s,72℃ 延伸 3 min,35 个循环,72℃ 再延伸 10min。用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果,凝胶成像系统扫描记录结果。

PCR 扩增产物经纯化试剂盒(V-gene DNA 凝胶回收试剂盒)纯化后,委托北京三博志远生物技术有限公司进行正反双向测序(ABI-3730XL 全自动 DNA 测序仪)。

1.4 序列分析

测序后的序列与 GenBank 下载的序列一起用 ClustalX 排序,对比 GenBank 中紫貂和日本貂(*M. melampus*)线粒体 DNA 全序列,分别以 tRNA^{Phe}的终点和 tRNA^{Phe}的起点查找控制区的起点和终点,同时对比已报道的哺乳动物^[1]和菊头蝠属(*Rhinolophus*)^[7]的线粒体 DNA 控制区序列,找到鼬科动物的 CSB-F 和 CSB-1,并以 CSB-F 和 CSB-1 的起点分别作为终止序列区、中央区和保守序列区的分界线。利用 MEGA 4.0 软件分析序列的碱基组成。

系统发育分析应用软件包 PAUP Version 4.0b10。邻接法分析(NJ)使用 Kimura 2-parameter,系统树分支的置信度采用重复抽样分析(Bootstrap analysis)的方法,重复抽样的次数为 1 000 次^[16]。

2 结果与分析

2.1 鼬科动物线粒体 DNA 控制区全序列特征

文中涉及的 11 种鼬科动物线粒体 DNA 控制区全序列长度变化较大,在 881 ~ 1138 bp 之间(表 2)。控制区长度变异的主要原因在于两端的 ETAS(170 ~ 244 bp)和 CSB(371 ~ 617 bp),CD 区的长度变异只有 3 个碱基(324 ~ 327bp)。

从 11 种鼬科动物生成的比对序列来看,发现很多碱基的插入和缺失。A、C、G 和 T 碱基平均含量分别为 30.1%、27.7%、14.9%、27.3%。比较终止序列区、中央区和保守序列区这 3 个区段的 A、C、G 和 T 碱基平均含量,其结果表明:延长终止相关序列区内除臭鼬和白背獾臭鼬外的所有物种都具有相似的碱基组成 T > C > A > G,臭鼬和白背獾臭鼬出现 A > C 的原因分别在于 AT 重复序列在此出现和 10 个 C/T 转换、1 个 A/T 颠换导致的基因突变结果;中央区内虎鼬、貂熊和水獭为 T > C > A > G,与食虫目、翼手目、奇蹄偶蹄目动物相似,海獭为 T > C > G > A,与抹香鲸相似,其余种类保持了食肉类动物的特征 T > A > C > G;保守序列区内除獾臭鼬类和水獭外均为 A > C > T > G(表 2)。在所有物种的控制区及 3 个子区内,G 碱基含量几乎都最低,但中央区内的 G 含量较两侧区却高,与其他脊椎动物相似^[1]。鼬科各物种间的碱基变异程度较高,这与其形态特征多样化相一致。

2.2 延长终止相关序列(extended termination associated sequences,ETAS)

延长终止序列区是控制区变异最大的区域,包含与控制区 DNA 复制终止相关的序列 TAS。该区长度除臭鼬为 244 bp 外,其余种类延长终止序列区长度 170 ~ 186 bp,长度差异性较小,而臭鼬变长是由于存在 AT 重复序列。Sbisa 等^[1]在哺乳动物中识别了两个终止相关序列 ETAS1 和 ETAS2;Randi and Lucchini^[17]、朱世华等^[4]分别在鸟类和鱼类中识别了类似结构。而作者通过比较各类动物控制区序列,发现鼬科动物仅具有 ETAS1,一般长度为 61bp,序列通式为—CC—ATGTA—TCGTGCATT—G—T—GCCCCA—GCATATA-GCA-T GTACAT—,其中含有核心序列 ATGTA 以及反向互补序列 TACAT,可形成稳定的发卡结构。此外还有 GCCCC,推测该结构可以终止控制区序列合成^[7]。

表 2 鼬科物种控制区序列碱基组成及长度

Table 2 Nucleotide compositions and length of the mitochondrial DNA control region in Mustelidae species

物种 Species	中央区 Central domain					保守序列区 Conserved sequence blocks				
	A(%)	C(%)	G(%)	T(%)	长度 Longness (bp)	A(%)	C(%)	G(%)	T(%)	长度 Longness (bp)
<i>Martes zibellina</i>	25.8	25.2	20.9	28	325	38.3	37.8	7.5	16.4	590
<i>M. flavigula</i>	24.3	25.5	21.8	28.6	325	35.4	29.0	12.1	23.4	610
<i>Meles meles</i>	25.2	25.2	21.5	28.2	326	41.2	29.7	6.6	22.5	498
<i>Spilogale putorius</i>	24.8	24.2	21.5	29.4	326	36.4	27.1	9.9	26.6	568
<i>Mustela putorius</i>	25.4	25.4	19.9	29.4	327	34.5	28.8	10.5	26.1	371
<i>Vormela peregusna</i>	23.4	26.2	21.2	29.2	325	33.5	31.8	12.7	21.9	597
<i>Gulo gulo</i>	24.6	25.2	21.5	28.6	325	34.3	33.5	11.4	20.7	603
<i>Lutra lutra</i>	24.2	25.5	21.8	28.5	326	31.9	34.5	13.1	20.5	589
<i>Enhydra lutris</i>	22.7	25.8	23.3	28.2	326	32.2	31.9	12.9	23.0	479
<i>Conepatus chinga</i>	25.5	24.3	21.5	28.6	325	32.7	22.9	16.1	28.3	615
<i>C. leuconotus</i>	25.9	23.8	19.4	30.9	324	32.3	23.2	16.2	28.4	617
平均 Average	24.7	25.1	21.3	28.9		34.8	30.0	11.7	23.4	

物种 Species	完整控制区 Whole control region					延长终止序列区 Extended termination-associated sequences				
	A(%)	C(%)	G(%)	T(%)	长度 Longness (bp)	A(%)	C(%)	G(%)	T(%)	长度 Longness (bp)
<i>Martes zibellina</i>	32.1	32.5	12.3	23	1089	23.0	28.2	12.6	36.2	174
<i>M. flavigula</i>	30.4	27.7	15.5	26.6	1107	24.4	27.9	14.0	33.7	172
<i>Meles meles</i>	33.3	27.7	12.6	26.4	1000	26.1	26.7	13.1	34.1	176
<i>Spilogale putorius</i>	32.3	23.8	13.4	30.4	1138	32.8	15.6	11.1	40.6	244
<i>Mustela putorius</i>	28.8	26.4	14.2	30.5	881	23.5	23.5	11.5	41.5	183
<i>Vormela peregusna</i>	28.6	29.3	15.3	26.7	1108	22.0	26.9	13.4	37.6	186
<i>Gulo gulo</i>	30.0	29.8	14.5	25.8	1098	24.7	25.3	11.8	38.2	170
<i>Lutra lutra</i>	28.5	30.8	15.9	24.8	1090	25.1	28.6	14.3	32.0	175
<i>Enhydra lutris</i>	27.7	28.7	16.7	26.9	984	25.1	25.1	14.5	35.2	179
<i>Conepatus chinga</i>	29.6	24.1	17.3	29.0	1113	26.6	27.7	13.3	32.4	173
<i>C. leuconotus</i>	29.6	23.7	16.6	30.0	1113	27.3	25.6	12.8	34.3	172
平均 Average	30.1	27.7	14.9	27.3		25.5	25.5	13.0	36.0	

2.3 中央区 (central domain, CD)

中央区是控制区最为保守的区域,因此也称中央保守区域。根据各类哺乳动物的序列,在鼬科动物控制区的中央区识别出 5 个明显的保守序列,即 CSB-B、C、D、E 和 F,其中 CSB-C、D 和 F 序列相对更为保守,突变率均低于 8%,与各类哺乳动物相似性较高。而 CSB-B 和 E 变异较大,突变率分别为 22.2% 和 26.3%,CSB-E 在鼬科中识别的标志序列为 CT-CT-CTCGCTCCGGGCCCA—GTGGGGGT—; CSB-B 为 TCAT-CATTTGGTAT—。

2.4 保守序列区 (conserved sequence blocks, CSB)

鼬科动物保守序列区结构与家猫^[1]相似,包括变异程度相对较高的 CSB-1 和相对保守的 CSB-2 和 CSB-3,并且在 CSB-1 和 CSB-2 之间存在富含 AC 的重复序列,不同种类的重复序列模式和拷贝数均有差异(表 3),如水獭的重复序列为 GTACGT(C)ATACACGCACACCCA 循环 6 次,与 Yonezawa 等^[9]报道的不同;智利獾臭鼬为 GTGTACGCATAC 循环 21 次,随后 CGCATA 循环 3 次;白背獾臭鼬为 TACGCATATGTG 循环 3 次,随后 TACGCA 11 次和 GTACGT 18 次,由此可见,该区出现的短重复序列与碱基含量差异息息相关。同时也是导

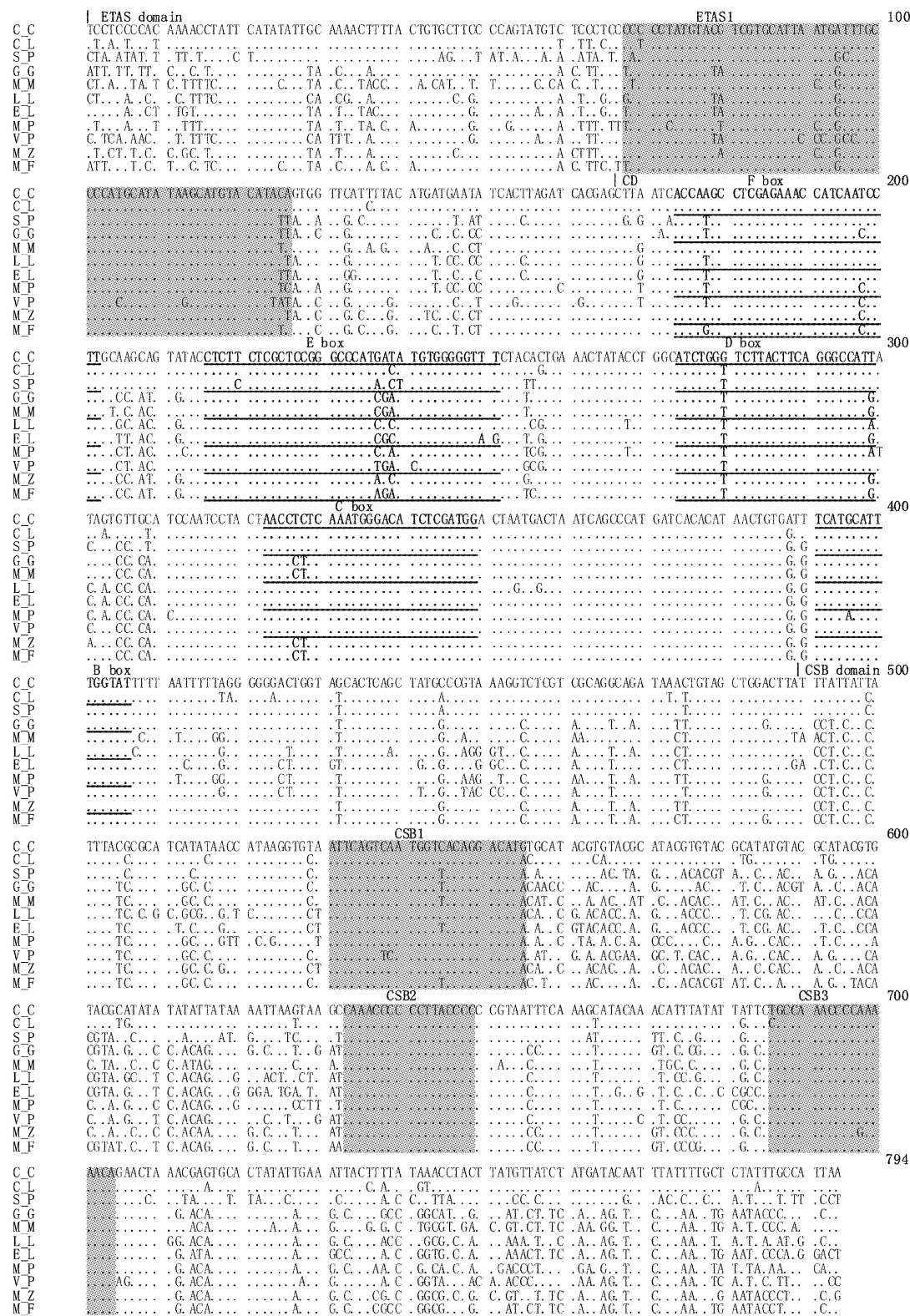


图1 鼬科11种动物线粒体控制区保守序列结构

Fig. 1 The structure of control region of Mustelidae species

C_C:智利獾臭鼬 *C. chinga*; C_L:白背獾臭鼬 *C. leuconotus*; S_P:东部斑臭鼬 *S. putorius*; G_G:貂熊 *G. gulo*; M_M:狗獾 *M. meles*; L_L:水獭 *L. lutra*; E_L:海獭 *E. lutris*; M_P:林鼬 *M. putorius*; V_P:虎鼬 *V. peregusna*; M_Z:紫貂 *M. zibellina*; M_F:黄喉貂 *M. flavigula*; C_C: *C. chinga*; C_L: *C. leuconotus*; S_P: *S. putorius*; G_G: *G. gulo*; M_M: *M. meles*; L_L: *L. lutra*; E_L: *E. lutris*; M_P: *M. putorius*; V_P: *V. peregusna*; M_Z: *M. zibellina*; M_F: *M. flavigula*

致保守序列区长度差异性高(371 ~ 617 bp)的主要原因。

表 3 鼬科动物的重复序列单元模式

Table 3 The types of repeated motifs of Mustelidae species in the study

物种 Species	重复序列模式 Repeated motifs	重复次数 Repeat times
<i>M. zibellina</i>	(AC) <i>n</i> 插入个别 GT 或 AT	116
<i>M. flavigula</i>	(AC)2GT / (AC)3GT / (AC)4GT	31 / 4 / 2
<i>M. meles</i>	(AC) <i>n</i> 插入个别 AT	63
<i>S. putorius</i>	(AC)3GT / AT(AC)2GT / ACATACGT	17 / 8 / 4
<i>M. putorius</i>	(AC)2GT	2
<i>V. peregusna</i>	(AC)2GTACGCAC / GCATACGAAC	13 / 3
<i>G. gulo</i>	(AC) <i>n</i> 插入个别 GT	90
<i>L. lutra</i>	GTACGT(C)ATACACGCACCCAC	2 / 4
<i>E. lutris</i>	CACGTACACCCACGTACGTA	7
<i>C. chinga</i>	GTGTACGCATAC / CGCATA	21 / 3
<i>C. leuconotus</i>	TACGCATATGTG / TACGCA / GTACGT / ACGTGT	3 / 11 / 18 / 3

2.5 系统发育分析

基于线粒体控制区全序列数据,以狼为外类群对鼬科 11 种动物进行系统发育分析。应用 NJ 法构建了系统发育关系树(图 2),枝长表示分歧度,枝上的数值是 1000 次重复抽样检验的置信度值。从图 2 中可以看出,臭鼬亚科最先从鼬科中分化出来,随后剩余类群分为两大支系,即貂属种类与貂熊聚为一支,并与獾亚科的狗獾形成姐妹群(BP = 99);另一支为水獭亚科的物种与鼬属的林鼬形成姐妹群,再与虎鼬聚在一起(BP = 72),这与 Yonezawa 等^[9]基于线粒体 cyt b 基因及核基因分析得到的结果是相似的(獾亚科除外)。但本研究得出的獾亚科的进化位置与利用线粒体全基因组研究的结果相一致。

3 讨论

3.1 鼬科动物控制区结构

控制区在鼬科中的结构与已描述的哺乳动物具有一定差异^[1,2,7]。一般动物控制区内均含有 3 个保守区,即延长终止序列区、中央区和保守序列区,并且完全分离排列,不同的种类甚至同种不同个体间也具有不同的碱基组成和变异频率。在大部分哺乳动物的延长终止序列区内具有 2 个 ETAS,而鼬科动物中仅发现 ETAS1,这与某些啮齿动物的结构相似^[2]与亲缘关系很近的食肉目中的家猫反而差异较大^[1]。其它区域结构特征与食肉类极为相似。

通过比较各类哺乳动物控制区序列发现,鼬科 ETAS1 中存在一个 GCCCC 序列,而 Douzery and Randi^[18]在牛和鹿中也发现了该序列,但在猪中为 TCCCC,与羚羊^[19]相同,此外 Sun 等^[7]在菊头蝠中未发现为 ACCCC,推断该序列可能是终止 D-loop 合成的识别位点。此外,本研究发现在东部斑臭鼬 ETAS1 上游具有 2 段 AT 短重复序列,这是导致东部斑臭鼬延长终止序列区长度较其它鼬科种类长的主要原因。在该区域内一般存在长重复序列,如普通鼯鼠(*Sorex araneus*)和羊(*Ovis aries*)等,并随着 ETAS1 出现,而短重复序列在家猫和菊头蝠等动物的 ETAS1 区存在,都与东部斑臭鼬的出现位置不同,其产生机制目前也尚不清楚。

鼬科动物中央区的 5 段高度保守序列的变异率为 14.7%,几乎与哺乳动物各类群的线粒体 rRNA 基因变异率相同^[20]。中央区的生物学功能目前仍不清楚,但据了解,它可能包含终止线粒体细胞骨架分子合成的特定序列^[7]。

哺乳动物的保守序列区中一般都存在保守序列 CSB1,而相似性较高的 CSB2 和 CSB3 并不一定始终存在或仅存在一部分^[1,21]。在鼬科中,这两个单元都存在,并且 CSB2 最保守。有的学者认为 CSB1 与 H-链复制引物的产生有关,而 CSB2、3 则与控制区复制结构的包装有关^[1]。也有学者认为 CSB2 只是 mtDNA 行使正常功能的必要元件^[22]。在 CSB1 和 CSB2 之间识别出了很多哺乳动物中存在的短重复序列^[1,2,7],但重复模式和拷

贝数都是不同的。这些重复序列的形成机理可能由于在 DNA 和 RNA 转录过程中碱基序列滑动错配引起的^[2,7],也可能由于转座机制造成的^[3]。

3.2 鼬科动物系统发育分析

辛普森于 1945 年基于经典形态学分类法将鼬科分成五个亚科,即鼬亚科、水獭亚科、獾亚科、美洲獾亚科和臭鼬亚科^[23]。但随着分子遗传标记技术的快速发展,很多基于分子手段构建的鼬科分类系统均表明臭鼬亚科应单独列为一个科,即臭鼬科(Mephitidae)^[24-25]。尽管他们多是仅利用核基因和线粒体基因部分序列进行分析,可信度较差,但大体结论基本相似,并且本研究利用线粒体 DNA 控制区全序列进行分析亦得出类似结论。因此,根据本研究结论建议将臭鼬亚科提升为臭鼬科。

由图 2 可知,除臭鼬亚科以外的鼬科动物仍然不是一个单系群。鼬亚科分为两个支系:貂属+貂熊属和鼬属。水獭亚科与鼬属形成一个姐妹群,同时,獾亚科中的狗獾同貂属+貂熊属形成一个姐妹群,最后鼬亚科的两个支系形成并系群。其中水獭亚科分类地位与 Marmi 等^[24]和 Yonezawa 等^[9]的研究结果一致。而獾亚科中的狗獾在不同的研究中所处位置不同。如 Arnason 等^[25]对犬型超科进行系统发育分析时认为狗獾是鼬亚科的姐妹群,而本研究指出,狗獾与鼬亚科中的貂属+貂熊属关系较近,与作者利用线粒体全基因组研究的结果相一致。但根据 Sato 等^[13]和 Flynn 等^[14]的研究结果来看,獾亚科中很可能仅狗獾和猪獾(*Arctonyx collaris*)与鼬亚科关系较近,而臭鼬(*Mydaus marchei*)则与臭鼬的关系更近。由此看出獾亚科的系统发育关系比较复杂,遗憾的是目前有关獾亚科其它物种线粒体 DNA 控制区序列数据缺乏,因此,本研究也无法深入探讨整个獾亚科在鼬科中的分类地位。

此外,貂熊的分类地位在以往的研究中一直无法确定。原因在于利用不同的分析方法得出的结论截然不同。基于线粒体 DNA *cyt b* 基因全序列构建的系统进化树表明貂熊与渔貂亚属(*Pekania*)的渔貂(*M. pennanti*)是近缘种^[26];基于线粒体 DNA 12 种重链编码蛋白基因的结果是与真貂亚属(*Martes*)的美洲貂(*M. americana*)近缘^[25];而基于线粒体 DNA ND2 和 *cyt b* 基因的结果则是与黄喉貂亚属(*Charronia*)的黄喉貂(*M. flavigula*)近缘,由此可见,基于线粒体 DNA 编码基因构建的拓扑结构具有一定的可变性,可信度较差。通过本研究中的结论可以进一步验证上述各种结论的正确性,可以初步判断貂熊并非与真貂亚属近缘,但与黄喉貂和渔貂之间的关系尚有待进一步研究。

References:

- [1] Sbisa'E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 1997, 205(1-2): 125-140.
- [2] Larizza A, Pesole G, Reyes A, Sbisa'E, Saccone C. Lineage specificity of the evolutionary dynamics of the mt DNA D-Loop region in rodents. *Journal of Molecular Evolution*, 2002, 54(2): 145-155.
- [3] Ketmaier V, Bernardini C. Structure of the mitochondrial control region of the Eurasian marten (*Lutra lutra*, Carnivora, Mustelidae): patterns of genetic heterogeneity and implications for conservation of the species in Italy. *Journal of Heredity*, 2005, 96(4): 318-328.
- [4] Zhu S H, Zheng W J, Zou J X, Yang Y C, Shen X Q. Mitochondrial DNA Control Region Structure and Molecular Phylogenetic Relationship of Carangidae. *Zoological Research*, 2008, 28(6): 606-614.
- [5] He C B, Gao X G, Wang X M, Liu W D, Zhou Z C, Mu Y L, Ge L L. Structure and evolution of complete mitochondrial genome of spotted halibut *Verasper va riegateus*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, 14(4): 584-592.
- [6] Yan L, Zhang Y, Wang N, Zhang L, Nie L W. Comparison of Mitochondrial Control Region Sequences Between Chelydridae and Platysternidae. *Zoological Research*, 2008, 29(2): 127-133.

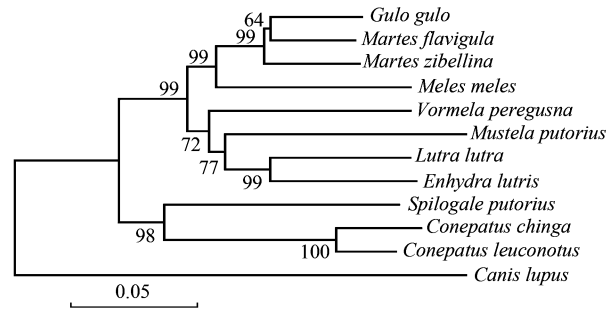


图 2 基于线粒体控制区全序列构建的鼬科 NJ 系统树

Fig. 2 Phylogenetic trees based on the complete mt DNA control region sequences of Mustelidae by Neighbour-Joining analysis

- [7] Sun K P, Feng J, Jin L R, Liu Y, Shi L M, Jiang T L. Structure, DNA sequence variation and phylogenetic implications of the mitochondrial control region in horseshoe bats. *Mammalian Biology*, 2009, 74(2):130—144.
- [8] Reyes A, Nevo E, Saccone C. DNA sequence variation in the mitochondrial control region of subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi* superspecies, in Israel. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(4):622—632.
- [9] Yonezawa T, Nikaido M, Kohno N, Fukumoto Y, Okada N, Hasegawa M. Molecular phylogenetic study on the origin and evolution of Mustelidae. *Gene*, 2007, 396(1):1—12.
- [10] Dragoo J W, Honeycutt R L, Schmidly D J. Taxonomic status of white-backed hog-nosed skunks, Genus *coneptatus* (Carnivora: Mephitidae). *Journal of Mammalogy*, 2003, 84(1):159—176.
- [11] Rozhnov V V, Meschersky I G, Abramov A V. Geographical variation of the marbled polecat *Vormela peregusna* (Carnivora: Mustelidae): molecular genetic study. *Doklady Biological Sciences*, 2008, 418(1):27—29.
- [12] Wyss A R, Flynn J J. A phylogenetic anaysis and definition of the Carnivore. In: Szalay F S, Novacek M, McKenna M. *Mammal Phylogeny*. New York: Springer-Verlag, 1993.
- [13] Sato J J, Hosoda T, Wolsan M, Suzuki H. Molecular phylogeny of Arctoids (Mammalia:Carnivora) with emphasis on phylogenetic and taxonomic positions of the ferret-badgers and skunks. *Zoological Science*, 2004, 21(1):111—118.
- [14] Flynn J J, Finarelli J A, Zehr S, Hsu J, Nedbal M A. Molecular phylogeny of the Carnivora (Mammalia): assessing the impact of increased sampling on resolving enigmatic relationships. *Systematic Biology*, 2005, 54(2):317—337.
- [15] Sambrook J, Russel D W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [16] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, 2004, 5(2):150—163.
- [17] Randi E, Lucchini V, Bernard-Laurent A. Evolutionary genetics of *Alectoris* partridges: the generation and conservation of genetic diversity at different time and space scales. *Gibier Faune Sauvage*, 1998, 15:407—415.
- [18] Douzery E, Randi E. The mitochondrial control region of Cervidae: evolutionary patterns and phylogenetic content. *Molecular Biology and Evolution*, 1997, 14(11):1154—1166.
- [19] Iyengar A, Diniz F M, Gilbert T, Woodfine T, Knowles J, Maclean N. Structure and evolution of the mitochondrial control region in oryx. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 40(1):305—314.
- [20] Pesole G, Gissi C, De Chirico A, Saccone C. Nucleotide substitution rate of mammalian mitochondrial genomes. *Journal of Molecular Evolution*, 1999, 48(4):427—434.
- [21] Gemmell N J, Western P S, Watson J M, Graves J A. Evolution of the mammalian mitochondrial control region-comparisons of control region sequences between monotreme and therian mammals. *Molecular Biology and Evolution*, 1996, 13(6):798—808.
- [22] Broughton R E, Dowling T E. Evolutionary dynamics of tandem repeats in the mitochondrial DNA control Region of the minnow *Cyprinella spiloptera*. *Molecular Biology and Evolution*, 1997, 14(12):1187—1196.
- [23] Simpson G G. The principles of classification and a classification of mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 1945, 85, 1—350.
- [24] Marmi J, López-Giráldez J F, Domingo-Roura X. Phylogeny, evolutionary history and taxonomy of the Mustelidae based on sequences of the cytochrome B gene and a complex repetitive flanking region. *Zoologica Scripta*, 2004, 33(6):481—499.
- [25] Arnason U, Gullberg A, Janke A, Kullberg M. Mitogenomic analyses of caniform relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2007, 45(3):863—874.
- [26] Stone K D, Cook J A. Molecular evolution of Holarctic martens (genus *Martes*, Mammalia: Carnivora: Mustelidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 2002, 24(2):169—179.

参考文献:

- [4] 朱世华, 郑文娟, 邹记兴, 杨迎春, 沈锡权. 鲮科鱼类线粒体 DNA 控制区结构及系统发育关系. *动物学研究*, 2007, 28(6):606—614.
- [5] 赫崇波, 高祥刚, 王效敏, 刘卫东, 周遵春, 木云雷, 葛隄利. 圆斑星鲮线粒体基因组全序列结构及其进化. *中国水产科学*, 2007, 14(4):584—592.
- [6] 颜亮, 张雁, 汪宁, 张莉, 聂刘旺. 鳄龟科和平胸龟科线粒体控制区序列分析和结构比较. *动物学研究*, 2008, 29(2):127—133.